

シロスタゾール徐放フィルムによる血管吻合部新生 内膜増殖抑制に対する実験的研究

著者	加賀谷 智明
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第2763号
URL	http://hdl.handle.net/10097/50997

氏 名 加賀谷 智明

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学位授与年月日 平成 22 年 3 月 25 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 1 項

研 究 科 専 攻 東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻

学位論文題目 シロスタゾール徐放フィルムによる血管吻合部新生内膜増殖抑制
に対する実験的研究

論文審査委員 主査 教授 田林 暁一

教授 佐藤 成 教授 山家 智之

論 文 内 容 要 旨

研究背景及び目的

近年, 心臓血管外科学領域における冠動脈バイパス術(coronary artery bypass grafting; CABG)の普及は, 冠動脈疾患患者の予後ならびに生活の質の向上に大きく貢献してきた. CABG ではグラフトとして内胸動脈や大伏在静脈が用いられるが, 静脈グラフトは動脈グラフトと比較し, 新生内膜肥厚による血管狭窄病変を惹起しやすいことが臨床上の問題となっている. ホスホジエステラーゼ III(phosphodiesterase III; PDEⅢ)阻害剤は, cAMP の分解を特異的に阻害することによって細胞内の cAMP 濃度を上昇させ, 血管平滑筋弛緩作用, 血小板凝集抑制作用および血管平滑筋細胞増殖抑制作用を導くことが知られている. 本研究の目的は, 経口 PDEⅢ阻害剤であるシロスタゾールと生体吸収性材料である P(LA/CL)を混合したシロスタゾール徐放フィルムによるイヌ血管吻合モデルの吻合部被包が, 吻合部新生内膜の増殖抑制効果を有するかについて組織化学および組織計測学的に検討する事である.

研究方法

1. シロスタゾール徐放フィルムの作成

クロロホルムを共溶媒としシロスタゾールと P(LA/CL)を混合しシロスタゾール徐放フィルムを作成した. フィルムに含有させるシロスタゾール量は 10 mg, 40 mg, 80 mg とし用量効果について検討した.

2. 血管吻合モデルの作成と評価

同一個体の両側の大腿動脈, 大腿静脈に各2箇所端々吻合を行い, 血管吻合モデルを作成しこれを動脈グラフトモデル、静脈グラフトモデルとした. 実験群は 10 mg, 40 mg, 80 mg のシロスタゾール含有徐放フィルム群の 3 群と吻合のみを試行した群(コントロール)の計 4 群とし, 各群あたり 5 頭のビーグル犬を割り付けた. モデル動物は 4 週間後に全身麻酔下に塩酸カリウム静脈注射にて犠牲死後, 吻合部血管を摘出し, 組織学的検索を行った. 摘出標本は薄切により吻合部の横断面を作製し, Hematoxylin-Eosin(HE)染色および膠原線維, 弾性線維同定のための Elastica-Goldner 変法(EG)染色を行った. 内膜肥厚度の定量化のために, デジタル画像解析により測定した内膜(I)および中膜(M)の面積からそれらの比(I/M ratio)を算出した. 新生内膜における増殖細胞を可視化するために抗 proliferating cell nuclear antigen(PCNA)抗体を用いて免疫染色を行った. 新生内膜における間葉系細胞の形質を同定するために, 抗 α -smooth muscle actin(α -SMA)抗体および抗 desmin 抗体を用いて免疫染色を行った. 内皮細胞同定のために, 抗 von Willebrand 抗体を用いて免疫染色を行った.

研究結果

1. I/M ratio

動脈グラフトモデルにおいてコントロール群, シロスタゾール 10 mg, 40 mg および 80 mg 投与群の I/M ratio はそれぞれ, 0.31 ± 0.03 , 0.15 ± 0.03 , 0.11 ± 0.03 , 0.12 ± 0.03 であり, コントロール群に比してシロスタゾール群で有意に低値であった($P < 0.05$). 静脈グラフトモデルではコントロール群, シロスタゾール 10 mg, 40 mg および 80 mg 投与群の I/M ratio はそれぞれ, 0.43 ± 0.03 , 0.33 ± 0.03 , 0.32 ± 0.03 , 0.27 ± 0.03 であり, コントロール群に比してシロスタゾール 80 mg 投与群で有意に低値であった($P < 0.05$).

2. 免疫組織染色

動脈グラフトモデルおよび静脈グラフトモデルにおいて, シロスタゾール徐放フィルム群でコントロール群と比較し PCNA index, α -SMA 陽性細胞率の有意な低下がみられた. Desmin 陽性細胞率は, 動脈グラフトモデルにおいて 80 mg 群で有意な低下を認めたが, 静脈グラフトモデルでは有意な差は認めなかった. 抗 von Willebrand 抗体免疫染色では, 全群で吻合部の再内皮化を認めた.

結論

生体吸収性シロスタゾール徐放フィルムの血管外膜側からの局所投与は, 新生内膜肥厚抑制作用を有することが実験的に明らかとなった. シロスタゾールの新生内膜肥厚抑制の機序としては, 中膜から内膜へ移行した後の筋線維芽細胞の増殖抑制によることが示唆された.

審査結果の要旨

博士論文題名 シロスタゾール徐放フィルムによる血管吻合部新生内膜増殖抑制に対する実験的研究

所属専攻・分野名 医科学 専攻 心臓血管外科 分野

氏名 加賀谷 智明

本研究は臨床応用されている薬剤であるシロスタゾールの優れた新生内膜肥厚抑制効果に着目し、生体吸収性材料であるポリL乳酸カプロラクトン共重合体と混合することによりシロスタゾール徐放フィルムを作製し、それをイヌ血管吻合部外膜側から徐放投与することにより、吻合部新生内膜の増殖抑制効果を有するかについて組織化学および組織計測学的に検討したものである。

研究方法はシロスタゾール徐放フィルムを作製し、ビーグル犬の大腿動脈、大腿静脈を使用した血管吻合モデルを用いている。フィルムに含有させるシロスタゾールの量は 10 mg、40 mg、80 mg とし用量効果について検討した。また、フィルムを使用せず吻合のみ試行した群をコントロールとし、各群あたり 5 頭のビーグル犬を割り付けた。モデル動物は 4 週間後に全身麻酔下に塩酸カリウム静脈注射にて犠牲死後、吻合部血管を摘出し、組織学的検索を行った。

その結果、動脈グラフトモデルではシロスタゾールの含有量に比例して新生内膜肥厚抑制効果が得られた。また、80 mg シロスタゾール徐放フィルム群では静脈グラフトモデルでも新生内膜肥厚抑制効果が得られた。免疫組織染色では、動脈グラフトモデルおよび静脈グラフトモデルにおいて、シロスタゾール徐放フィルム群でコントロール群と比較し PCNA index、 α -SMA 陽性細胞率の有意な低下がみられた。また、抗 von Willebrand 抗体免疫染色では、全群で吻合部の再内皮化を認めた。シロスタゾール徐放フィルム投与後の血中濃度は測定した時点での最も高い時期で $0.02 \mu\text{g/ml}$ であり、100 mg 経口投与後の最高値 $0.57 \mu\text{g/ml}$ と比較すると約 1/30 であり、出血傾向の発現や頻脈などの全身投与の場合の合併症や副作用を減少させることができるものと期待された。

以上の結果から、生体吸収性シロスタゾール徐放フィルムの血管外膜側からの局所投与は、新生内膜肥厚抑制作用を有することが実験的に明らかとなった。シロスタゾールの新生内膜肥厚抑制の機序としては、中膜から内膜へ移行した後の筋線維芽細胞の増殖抑制によることが示唆された。本研究では新たなシロスタゾールの局所投与方法として生体吸収性の徐放フィルムを開発、使用した。同様に局所投与の基剤としてゲルを使用した報告も散見されるが、これらと比較しても、われわれの方法は投与部位を吻合部近傍のごく狭い範囲に局限させることが可能であること、生体吸収性素材であるため有害性が少なく使用が容易であること、滅菌が可能であることなど多くの利点があり、冠動脈バイパス術を含め多様な心臓血管外科手術への臨床応用が期待され、これらの点から学位論文に値すると評価する。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。